



Republik
Österreich
Patentamt

(11) Nummer: **390 437 B**

(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 3074/88

(51) Int.Cl.⁵ : **C07D 207/337**
A61K 31/40

(22) Anmeldetag: 16.12.1988

(42) Beginn der Patentdauer: 15.10.1989

(45) Ausgabetag: 10. 5.1990

(30) Priorität:

18.12.1987 US PCT/US 87/03413 beansprucht.

(56) Entgegenhaltungen:

US-PS4256759

(73) Patentinhaber:

CIBA- GEIGY AG
CH-4002 BASEL (CH).

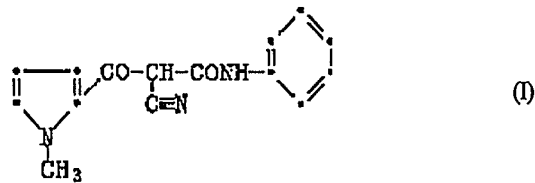
(54) TROMETHAMIN-SALZ VON 1-METHYL-BETA-OXO-ALPHA(PHENYLCARBAMOYL)-2-PYRROL-PROPIONITRIL

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft das neue pharmazeutisch annehmbare Tromethamin-Salz von 1-Methyl-beta-oxo-alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril sowie pharmazeutische Präparate, die diese Verbindung enthalten und Verwendung dieser Verbindung oder pharmazeutischen Präparate davon zur Behandlung von inflammatorischen und arthritischen Krankheiten.

AT 390 437 B

In der US-PS 4,256,759 ist 1-Methyl-Beta-oxo-Alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril der Formel I

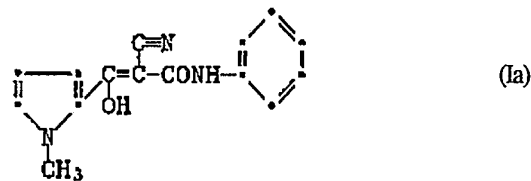
5



10

beschrieben worden. Diese Verbindung kann auch in tautomerer Enolform vorliegen, die durch Formel Ia

15



20

25

wiedergegeben wird.

In der US-PS 4,256,759 werden Salze mit Basen, insbesondere therapeutisch verwendbare Salze mit Basen, abgeleitet von einem Alkalimetall, Erdalkalimetall, Kupfer- oder Zinkhydroxid; Ammoniak, Mono-, Di- oder Tri-

30

(alkyl oder hydroxyalkyl)-aminen, Alkylenaminen oder Alkylendiaminen, wie Natrium-, Kalium-, Magnesium-, Ammonium-, Mono-, Di- oder Tri-(methyl, ethyl oder hydroxyethyl)-ammonium-, Pyrrolidinium-, Ethylendiammonium- oder Morpholiniumsalze oder ihre verschiedenen Hydrate, erwähnt.

35

In der Beschreibung der obengenannten US-PS sind spezifisch nur das Natrium-, Kalium-, Calcium- und Tris-hydroxyethylammonium (Triethanolamin)-Salz der Verbindung der Formel I beschrieben. Das Natrium-, Kalium- und Calcium-Salz sind nicht kristallin.

Es wurde festgestellt, daß das tertiäre Amin Triethanolamin sich in N-Nitrosodiethanolamin, einen potentiell karzinogenen Stoff, chemisch umwandeln läßt. Es wurde bereits verschiedentlich Besorgnis geäußert über Trichloranolaminsalze als Pharmazutika. Diese beruhen auf der Vermutung, daß Triethanolamin auf irgendeine Weise in den Säugern zu N-Nitrosodiethanolamin metabolisieren kann.

40

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein neues Salz von 1-Methyl-Beta-oxo-Alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril bereit zu stellen, das zur Behandlung von inflammatorischen und arthritischen Erkrankungen geeignet ist und vorteilhafte physikalische wie biochemische Eigenschaften aufweist.

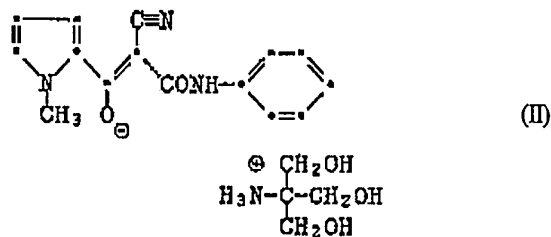
45

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch die Bereitstellung des neuen pharmazeutisch annehmbaren Tromethamin-Salzes von 1-Methyl-Beta-oxo-Alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril sowie von pharmazeutischen Präparaten enthaltend dieses Salz und deren Verwendung zur Behandlung von inflammatorischen und arthritischen Krankheiten gelöst.

Tromethamin ist das primäre Amin Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, auch 2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propanediol genannt, und im Merck Index, 10. Auflage, Seite 1395, beschrieben.

50

Es ist nicht bekannt, daß das primäre Amin Tromethamin in N-Nitrosoderivate chemisch umgewandelt wird. Die vorliegende Erfindung betrifft insbesondere das 1:1-Tromethamin-Salz von 1-Methyl-Beta-oxo-Alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril, welches durch Formel II



55

60

dargestellt wird.

Das neue Salz der Formel II zeigt antiinflammatorische und antiarthritische Wirkungen. Das Salz der Formel II entfaltet auch weitere Wirkungen, wie z. B. Hemmung von Knorpel-Matrix-Abbau und immunmodulierende Eigenschaften, und ist somit sehr gut zur Behandlung von arthritischen Krankheiten geeignet.

Das erfindungsgemäße Salz der Formel II ist bei den therapeutischen Dosierungen gut verträglich und weitgehend frei von unerwünschten Nebenwirkungen.

Das Salz der Formel II zeigt auch niedrigere Toxizität als die vorbekannte Verbindung der Formel I oder das vorbekannte Triethanolaminsalz davon. Bei einer Dosis von 2,4 Millimol/kg p.o. (932 mg/kg p.o.) Tromethaminsalz der Formel II wurden keine Todesfälle (0/10 Tiere) festgestellt im Gegensatz zu 50 % Sterblichkeit bei einer äquimolaren Dosis von 2,4 Millimol/kg p.o. (1000 mg/kg p.o.) Triethanolaminsalz der Verbindung der Formel I und 40 % Sterblichkeit bei einer äquimolaren Dosis von 2,4 Millimol/kg p.o. (641 mg/kg p.o.) der freien Säure der Formel I.

Das neue erfindungsgemäße Salz der Formel II bildet keine N-Nitrosogruppen-haltigen Metaboliten.

Aufgrund der oben genannten Eigenschaften ist das neue erfindungsgemäße Salz der Formel II allein oder in Kombination insbesondere zur Behandlung von rheumatoider Arthritis und Osterarthritis in Säugern, Menschen inklusive, verwendbar.

Die pharmakologischen Eigenschaften, in erster Linie antiinflammatorische, analgetische, antirheumatische, immunmodulierende und antiarthritischen Wirkungen, können in in-vitro oder in-vivo Versuchen nachgewiesen werden. In den letzteren werden vorzugsweise Säugetiere, z. B. Ratten, Mäuse, Meerschweinchen oder Hunde als Testobjekte verwendet. Die Verbindung kann den Tieren enteral, vorzugsweise oral, parenteral, z. B. subkutan oder intravenös, oder topisch, z. B. in Form von wässrigen Lösungen oder Suspensionen, verabreicht werden. Die verwendete Dosis kann in einem Bereich von etwa 0,1 und 100 mg/kg/Tag, vorzugsweise zwischen etwa 1 und 50 mg/kg/Tag, liegen. Die für die genannten Wirkungen gewählten Tests sind klassische Versuchsmethoden in-vivo, wie der Carrageenin-Pfotenödem- oder Adjuvantarthritis-Test in der Ratte, und der Synovitis-Test am Hund.

Bei Testmethoden in-vitro rangieren Konzentrationen der Verbindung der Formel II zwischen etwa 1×10^{-8} M bis 1×10^{-4} M, vorzugsweise zwischen etwa 1×10^{-7} M bis 1×10^{-5} M. Solche Tests sind z. B. die in-vitro neutrale Protease Hemmung, beschrieben in Arthritis Rheum. 17, 47 (1974), oder Hemmung von neutrophilen Chemotaxis, beschrieben in Ann. N.Y. Acad. Sci., 256, 177 (1975); oder Abnahme der Leukozyten-Adhärenz, beschrieben in Amer. J. Med. 61, 597 (1976).

Die Hemmung der chemotaktischen Aktivierung von Neutrophilen kann in-vivo durch Messung der Hemmung von Neutrophilen-Akkumulation in implantierte Carrageenin in imprägnierte Polyurethanschwämme bei oraler Verabreichung der Verbindung bei der Ratte bestimmt werden.

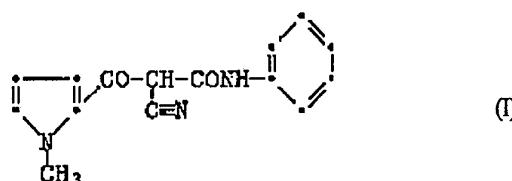
Die immunpotenzierenden Wirkungen können an BCG-immunisierten Tieren bestimmt werden. Die Erhöhung der durch die Zellen vermittelten Immunität wird in-vitro durch Messung der erhöhten Chemotaxis der aus BCG-immunisierten Ratten isolierten Makrophagen bestimmt. Die Erhöhung der durch die Zellen vermittelten Immunität wird in-vivo an der mit BCG-immunisierten arthritischen Ratte durch Messung der Verzögerung der Überempfindlichkeitsreaktion, im wesentlichen wie in Current Therapeutic Research 30, S. 34 (1981) beschrieben, bestimmt.

Die Bestimmung der Wirkung auf Knorpel-Matrix-Abbau kann im Knorpel-Synovialgewebe-Co-Kultivationsystem, einem Modell für das Studium des Knorpel-Matrix-Abbau, gezeigt werden, das wie folgt ausgeführt wird:

Die Proteoglykan-Matrix des Nasenseptum-Knorpels des Rindes wird in-vitro durch ^{35}S -Einbau in Glycosaminoglycane markiert. Dazu werden die Knorpelscheibchen in sulfatfreiem Medium enthaltend ^{35}S -Natriumsulfat über Nacht inkubiert. Danach werden die ^{35}S -markierten Knorpelscheibchen mit Explantaten von normalem Synovialgewebe während 4 Tagen in "Multi-Well"-Gewebekulturplatten co-kultiviert. Am Ende dieser Inkubationszeit wird die Radioaktivität von einem 100 μl -Aliquot des Mediums gemessen. Darauf werden die Knorpelscheibchen hydrolysiert und die Radioaktivität darin bestimmt. Daraus läßt sich errechnen, welcher Teil der ^{35}S -markierten Glycosaminoglycane während der Co-Kultur ins Medium abgegeben wurde; durch Vergleich von behandelten und unbehandelten (= Kontroll) Kulturen läßt sich die prozentuale Hemmung der Matrix-Zerstörung errechnen.

Die Hemmung von Knorpel-Matrix-Abbau kann auch durch Messung der Hemmung von Abbrechen des Knorpels durch neutrale Protease, welche aus menschlichen Blut-Leukozyten gewonnen wird, bestimmt werden.

Das erfindungsgemäße kristalline Tromethaminsalz der Formel II wird hergestellt, indem man die Verbindung der Formel I



vorzugsweise mit einer äquimolaren Menge oder mit einem geringen Überschuß von Tromethamin in Gegenwart eines geeigneten inerten Lösungsmittels, wie eines alkoholischen oder etherischen Lösungsmittels oder Gemisches davon, so umsetzt, daß das Salz aus der Lösung kristallisiert. Geeignete Lösungsmittel sind z. B. Ethanol, Isopropanol, ein Gemisch von Tetrahydrofuran und Methyl-t-butyl-ether, oder ein Gemisch von Ethanol und Toluol. Die Salzbildung wird allgemein im mehr polaren Lösungsmittel durchgeführt, und das zweite weniger polare Lösungsmittel wird bei erhöhter Temperatur und in für die Kristallisation des Produktes ausreichender Menge zugefügt.

Das Ausgangsmaterial der Formel I ist aus der US-PS 4,256,579 bekannt und kann wie dort beschrieben hergestellt werden.

Das erfindungsgemäße Tromethaminsalz der Formel II kann in Form seines Hydrates erhalten werden oder andere, für die Kristallisation verwendete Lösungsmittel einschließen.

Die pharmazeutischen Präparate der vorliegenden Erfindung, welche eine wirksame Menge der Aktivsubstanz der Formel II zusammen mit einem oder mehreren pharmazeutisch annehmbaren Trägerstoffen enthalten, werden enteral, vorzugsweise oral oder rectal, und parenteral Säugern, Menschen inklusive, für die Behandlung von inflammatorischen/arthritischen Krankheiten, wie Osteoarthritis und rheumatoider Arthritis, und von immunologisch bedingten Krankheiten, verabreicht.

Das erfindungsgemäße pharmakologisch aktive Salz der Formel II wird in pharmazeutische Präparate inkorporiert, welche eine wirksame Menge davon im Gemisch mit Trägerstoffen enthalten, die sich zur enteralen, parenteralen oder topischen Verabreichung eignen. Vorzugsweise verwendet man Tabletten und Gelatine kapseln, welche den Wirkstoff zusammen mit (a) Verdünnungsmitteln, z. B. Lactose, Dextrose, Rohrzucker, Mannit, Sorbit, Cellulose, Hydroxypropylmethylcellulose und/oder Glycin; (b) Gleitmitteln, z. B. Kieselerde, Talk, Stearinsäure oder Salze davon, wie Magnesium- oder Calciumstearat und/oder Polyethylenglykol; aufweisen. Tabletten enthalten ebenfalls (c) Bindemittel, z. B. Magnesiumaluminiumsilicat, Stärke-Paste, Gelatine, Traganth, Methylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose und/oder Polyvinylpyrrolidon; und wenn erwünscht (d) Sprengmitteln, z. B. Stärken, Agar, Alginsäure oder das Natriumsalz davon, und/oder Brausemischungen; und/oder (e) Adsorbtionsmittel, Farbstoffe, Geschmackstoffe und Süßmittel. Injizierbare Präparate sind vorzugsweise isotonische wässrige Lösungen oder Suspensionen, und Suppositorien oder topische Lotionen sind in erster Linie aus Fettemulsionen oder -suspensionen hergestellt. Die Präparate können sterilisiert sein und/oder Hilfsstoffe, wie Konservier-, Stabilisier-, Netz- oder Emulgiermittel, Löslichkeitsvermittler, Salze zur Regulierung des osmotischen Druckes und/oder Puffer, enthalten. Die vorliegenden pharmazeutischen Präparate, die, wenn erwünscht, weitere therapeutisch wertvolle Stoffe enthalten können, werden in an sich bekannter Weise, z. B. mittels konventioneller Misch-, Granulier- oder Dragierverfahren, hergestellt und enthalten von etwa 0,1 bis 75 %, insbesondere von etwa 1 bis 50 %, des Aktivstoffes.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiter die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindung der Formel II zur Behandlung von inflammatorischen und arthritischen Krankheiten, wie rheumatoider Arthritis oder Osteoarthritis in Säugern, Menschen inklusive, indem man eine wirksame Menge der erfindungsgemäßen Verbindung der Formel II oder ein pharmazeutisches Präparat, welches eine wirksame Menge der erfindungsgemäßen Verbindung der Formel II zusammen mit einem oder mehreren pharmazeutisch annehmbaren Trägerstoffen enthält, den Säugern, Menschen inklusive, verabreicht.

Die verwendete Dosis der Aktivsubstanz ist von Spezies, vom Körper-Gewicht, Alter und individueller Kondition, und von der Art der Verabreichung abhängig.

Die Einzeldosis für Säuger mit 50 bis 70 kg Gewicht liegt zwischen etwa 100 und 500 mg der Aktivsubstanz.

Die folgenden Beispiele dienen zur Illustration der Erfindung und sie dürfen nicht als Einschränkung aufgefaßt werden. Temperaturen werden in Celsiusgraden angegeben. Wenn nicht anders definiert, wird das Eindampfen unter vermindertem Druck, vorzugsweise zwischen etwa 15 und 100 mm Hg durchgeführt. Die Struktur des Produkts ist durch analytische Methoden, insbesondere spektroskopische Charakteristika (z. B. MS, IR, NMR) und Elementaranalyse, gesichert.

Beispiel 1

Eine Suspension von 10,09 g 1-Methyl-beta-oxo-alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril in 160 ml Tetrahydrofuran wird zum Rückfluß erhitzt, die erhaltene Lösung auf 50-55° abgekühlt, und mit 5,22 g Tromethamin versetzt. Das erhaltene Gemisch wird 30 Minuten unter Rückfluß gerührt, bis etwa 45-50° abgekühlt, dann mit Aktivkohle behandelt, gerührt bis zur Erreichung der Raumtemperatur und mit Hilfe von Hyflo filtriert. Die erhaltene Lösung wird bis zu einem Volumen von etwa 50 ml reduziert; 40 ml Methyl-t-butyl-ether langsam zugefügt und das Gemisch während 2 Stunden bei 15-20° gerührt. Das kristalline Produkt wird gesammelt, mit einem 1:1-Gemisch von Tetrahydrofuran und Methyl-t-butyl-ether gewaschen, bei 80 °C unter Vakuum über Nacht getrocknet. Man erhält das Tromethamin-Salz von 1-Methyl-beta-oxo-alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril (1:1), Smp. 163-165°.

Beispiel 2

Eine Suspension von 13,36 g 1-Methyl-beta-oxo-alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril und 6,06 g Tromethamin in 100 ml Ethanol wird 30 Minuten zum Rückfluß erhitzt, die Lösung zur Raumtemperatur abgekühlt, mit Aktivkohle behandelt, filtriert und bei einer Temperatur unter 60° bis zu einem Volumen von etwa 45 ml reduziert. Die erhaltene Lösung wird zu etwa 50-55° erhitzt, 100 ml Toluol innerhalb von einer halben Stunde unter Rühren langsam zugefügt, das erhaltene Gemisch während einer Stunde langsam bis zu etwa 15° abgekühlt und eine Stunde bei 15° gerührt. Das erhaltene kristalline Produkt wird filtriert, mit Toluol gewaschen, bei 70-80° innerhalb von 24 Stunden unter Vakuum getrocknet. Man erhält das Tromethamin-Salz von 1-Methyl-beta-oxo-alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril. Das Produkt ist mit demjenigen des Beispiels 1 identisch. Eine weite Charge Produkt kann man durch Abdampfung der Mutterlauge zur Trockne und Kristallisation aus Ethanol:Toluol (1:2), wie oben beschrieben, gewinnen.

Beispiel 3

Zu einer Suspension von 13,85 g 1-Methyl-beta-oxo-alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril in 350 ml Ethanol wird 6,1 g Tromethamin zugefügt. Die Suspension wird so lange erhitzt, bis man eine Lösung bekommt und das Volumen auf etwa 75 ml reduziert ist. Die Lösung wird bis zur Kristallisation des Produktes gekühlt, das erhaltene Salz abgetrennt, mit Ethanol/Ether gewaschen und getrocknet. Man erhält das Tromethamin-Salz von 1-Methyl-beta-oxo-alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril (1:1). Das Produkt ist mit demjenigen des Beispiels 1 identisch.

Beispiel 4

Herstellung von 10.000 Tabletten mit einem Gehalt von je 250 mg der aktiven Substanz

Bestandteile:

Tromethamin-Salz von 1-Methyl-Beta-oxo-Alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril	2.500,0 g
kolloidale Kieselerde	20,0 g
mikrokristalline Cellulose	465,0 g
Hydroxypropylmethylcellulose	160,0 g
vernetztes Polyvinylpyrrolidon	200,0 g
Magnesiumstearat	35,0 g
gereinigtes Wasser	q.s.

Die aktive Substanz, die Kieselerde und die Hydroxypropylmethylcellulose werden in einem geeigneten Mischer innerhalb von etwa 20 Minuten vermischt. Das Gemisch wird mit einer genügenden Wassermenge granuliert. Das feuchte Granulat wird in einer Mühle gemahlen, durch ein # 5 Sieb getrieben, innerhalb von 6 Stunden bei 35° getrocknet, dann in einer Mühle gemahlen und durch ein # 2 Sieb getrieben. Das erhaltene Granulat, die Cellulose und das Polyvinylpyrrolidon werden zusammen in einem geeigneten Mischer innerhalb von 15 Minuten gemischt, das Magnesiumstearat (vorerst durch ein # 30 Sieb getrieben) wird zugegeben und innerhalb von etwa 5 Minuten mit dem Obigen gemischt. Das erhaltene Granulat wird dann zu Tabletten gepreßt. Die Tabletten können dann, wenn erwünscht, mit einer Filmmummantelung überzogen werden.

Beispiel 5

Akute Toxizität

Eine einmalige äquimolare Dosis jeder Verbindung wird als eine 3 % Stärke-Suspension oral 5 weiblichen und 5 männlichen Sprague-Dawley Ratten verabreicht. Die Tiere werden 15 Tage beobachtet. Das vergleichbare Eintreten von Sterblichkeit bei der freien Säure der Formel I, dem Triethanolamin-Salz davon und dem Tromethamin-Salz der Formel II ist wie folgt:

a) für 1-Methyl-beta-oxo-alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril (I, mol. wt.: 267,28)

Dosis		Sterblichkeit	
Millimol/kg	mg/kg	männlich	weiblich
1,2	321	0/5	0/5
2,4	641	2/5	2/5
3,6	962	4/5	4/5

b) für das Triethanolamin-Salz von 1-Methyl-beta-oxo-alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril (mol. wt.: 416,49)

5	Dosis		Sterblichkeit	
	Millimol/kg	mg/kg	männlich	weiblich
10	1,2	500	0/5	0/5
	2,4	1000	2/5	3/5
	3,6	1500	5/5	5/5

c) für das Tromethamin-Salz von 1-Methyl-beta-oxo-alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril (II, mol. wt.: 388,41)

15	Dosis		Sterblichkeit	
	Millimol/kg	mg/kg	männlich	weiblich
20	1,2	466	0/5	0/5
	2,4	932	0/5	0/5
	3,6	1398	5/5	5/5

30

PATENTANSPRÜCHE

35

1. Tromethamin-Salz von 1-Methyl-beta-oxo-alpha-(phenylcarbamoyl)-2-pyrrolpropionitril.
- 40 2. Antiinflammatorisch oder antiarthritisch wirksame pharmazeutische Präparate, enthaltend eine wirksame Menge der Verbindung nach Anspruch 1 in Kombination mit einem oder mehreren pharmazeutisch annehmbaren Trägerstoffen.
- 45 3. Verwendung der Verbindung nach Anspruch 1 als Antiinflammatorikum oder Antiarthritikum oder zur Herstellung eines antiinflammatorisch oder antiarthritisch wirksamen Arzneimittels.
4. Verwendung nach Anspruch 3 zur Behandlung von rheumatoider Arthritis.
- 50 5. Verwendung nach Anspruch 3 zur Behandlung von Osteoarthritis.
6. Verwendung der Verbindung nach Anspruch 1 für Hemmung von neutrophiler Chemotaxis oder zur Herstellung eines Arzneimittels für Hemmung von neutrophiler Chemotaxis.
- 55 7. Verwendung der Verbindung nach Anspruch 1 als immunomodulierendes Mittel oder zur Herstellung eines immunomodulierenden Arzneimittels.
- 60 8. Verfahren zur Herstellung von pharmazeutischen Präparaten zur Behandlung von inflammatorischen oder arthritischen Krankheiten, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Verbindung nach Anspruch 1 in eine zur Behandlung von rheumatoider Arthritis geeignete Form bringt.

9. Verfahren zur Herstellung von pharmazeutischen Präparaten zur Behandlung von inflammatorischen oder arthritischen Krankheiten, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Verbindung nach Anspruch 1 in eine zur Behandlung von Osteoarthritis geeignete Form bringt.

- 5 10. Verfahren zur Herstellung von pharmazeutischen Präparaten mit immunomodulierenden Eigenschaften, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Verbindung nach Anspruch 1 in eine zur Behandlung von immunologisch bedingten Krankheiten geeignete Form bringt.